

EVALUAREA EFECTULUI ANTIMICROBIAN AL UNOR SPECII DE BACTERII LACTICE

Assessment of antimicrobial effect of certain lactic acid bacteria species

Elena Rusu^{1,2}, Manole Cojocaru², Cristina Cristescu², Ionela Avram³,
Diana Pelinescu³

¹Institutul de Economie Mondială, București

²Departamentul Preclinic, Facultatea de Medicină,

Universitatea „Titu Maiorescu“, București

³Departamentul de Genetică, Facultatea de Biologie, Universitatea București

REZUMAT

La nivelul tubului gastrointestinal există un echilibru între flora microbiotă și tractul digestiv, care are ca efect diferențierea speciilor comensale de speciile bacteriene patogene. Datorită dezvoltării de noi terapii și utilizării unor compuși antimicrobieni cu spectru larg de acțiune, în ultima perioadă s-a observat o creștere a numărului de infecții oportuniste cauzate de tulpini bacteriene și fungice potențial patogene. Bacteriile lactice produc compuși cu activitate antimicrobiană, cum ar fi peroxidul de hidrogen, diacetil, acetaldehidă, izomeri D- ai aminoacizilor, reuterin și bacteriocine. Utilizarea probioticelor poate reprezenta o alternativă suplimentară în vederea creșterii și menținerii stării de sănătate a organismului uman.

Cuvinte cheie: bacterii lactice, antimicrobian, infecții

ABSTRACT

At the gastrointestinal tract level there is a balance between microbiota and the digestive tract which has as effect differentiation of pathogenic bacteria commensal species. Lately, due to the development of new therapies and use of a wide spectrum antimicrobial compounds we can notice an increase in the number of opportunistic infections caused by potentially pathogenic bacterial and fungal strains. Lactic acid bacteria produce compounds with antimicrobial action, such as hydrogen peroxide, diacetyl, acetaldehyde, D-amino acids isomers, reutin and bacteriocines. The use of probiotics can represent a supplementary alternative for increasing and maintaining the well-being of the human body.

Keywords: lactic acid bacteria, antimicrobial, infections

INTRODUCERE

La nivelul tubului gastrointestinal există un echilibru între microbiotă și tractul digestiv, care are ca efect diferențierea speciilor comensale de speciile bacteriene patogene. Studiile privind microorganismele probiotice s-au axat pe metodele de evaluare a supraviețuirii diferitelor specii bacteriene și a funcționării lor la nivel gastrointestinal, a interacțiunii între diferite specii microbiene intestinale și celu-

lele gazdă, precum și asupra interacțiunilor dintre probiotice și sistemul imunitar. În prezent, rezultatele furnizate de studiile clinice converg către influența pe care o are microbiota asupra sănătății organismului uman (1).

În ultimii ani a crescut interesul pentru studierea și utilizarea probioticelor în diferite afecțiuni ale organismului uman. Printre cele mai relevante efecte ale probioticelor se numără inhibiția dezvoltării unor microorganisme patogene, creșterea răs-

Autor corespondent:

Șef Lucr. Dr. Elena Rusu, Departamentul Preclinic, Facultatea de Medicină, Universitatea „Titu Maiorescu“, Str. Gheorghe Petrașcu, nr. 67A, sector 3, București
E-mail: elenarusu98@yahoo.com

punsului imun, reducerea nivelului colesterolului seric precum și neutralizarea mutagenilor produși la nivelul colonului și echilibrarea disfuncțiilor intestinale. Datorită dezvoltării de noi terapii și utilizării unor compuși antimicrobieni cu spectru larg de acțiune, în ultima perioadă s-a observat o creștere a numărului de infecții oportuniste cauzate de tulpini bacteriene și fungice potențial patogene. De aceea, utilizarea probioticelor poate reprezenta o alternativă suplimentară în vederea creșterii și menținerii stării de sănătate a organismului uman, implicat a calității vieții.

BACTERIILE LACTICE

Zona intestinală a organismului uman constituie un mediu bogat în diferite specii microbiene, la nivelul lui găsiindu-se în jur de 800-1.000 de specii bacteriene diferite și peste 7.000 de tipuri de tulpini (2). Pe măsură ce înaintăm în vârstă, microbiota intestinală devine mult mai complexă, fiind influențată de stilul de viață și de dieta alimentară. În ultima perioadă există o creștere a cererii de noi tulpini de bacterii lactice care prezintă efecte probiotice. Produsele alimentare fermentate prin metode tradiționale sunt cele mai bune surse unde se pot identifica diferite tipuri de microorganisme.

Una dintre caracteristicile benefice exercitate de bacteriile lactice este capacitatea acestora de a produce un număr variat de compuși cu activitate antimicrobiană, față de anumite tulpini de bacterii, drojdii și fungi. Printre acești compuși întâlnim atât metaboliți cu rol de inhibitori ai creșterii microbiene dar și metaboliți cu efect microbicid, cum ar fi de exemplu acizii organici (acidul lactic, acidul fenil-lactic, acidul hidroxifenil-lactic, acidul acetic, acidul propionic etc.), compuși de natură proteică precum bacteriocinele și compușii bacteriocin-like, peroxidul de hidrogen, reuterinul etc.

Unii dintre cei mai importanți și cunoscuți compuși implicați în activitatea antimicrobiană a bacteriilor lactice sunt acizii organici. Aceștia au rolul de a inhiba dezvoltarea bacteriilor patogene sau potențial patogene, deoarece duc la scăderea pH-ului, oferind astfel un mediu acid nefavorabil dezvoltării microorganismelor patogene. Mecanismul de acțiune al acidului lactic constă în difuzarea în celulă a formei nedisociate unde are loc disocierea acestuia și generarea de ioni de hidrogen care determină creșterea acidității la nivel citoplasmatic, având ca efect perturbarea activității metabolice a celulei. Acizii organici au un spectru foarte larg de acțiune, inhibând atât bacteriile Gram negative, cât și pe cele Gram pozitive, precum și o serie de tulpini de drojdii și fungi.

Bacteriocinele sunt proteine sau oligopeptide antimicrobiene sintetizate de o serie de tulpini bacteriene Gram pozitive și Gram negative și ele prezintă în general un spectru de activitate mult mai îngust decât al antibioticelor de sinteză.

Bacteriocinele au o aplicabilitate practică importantă în conservarea alimentelor, dar și în prevenirea unor infecții bacteriene. Ele au un spectru de inhibiție restrâns, acționând în special asupra bacteriilor Gram pozitive, însă numeroase bacteriocine produse de bacteriile lactice sunt active împotriva unor patogeni alimentari precum; *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* etc. O mare parte din bacteriocinele produse de bacteriile lactice sunt termostabile, în acest fel menținându-se activitatea și după procesele de conservare termică a alimentelor. Până în prezent, nisina produsă de specia *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* este singura bacteriocină aprobată pentru utilizarea în industria alimentară.

Mecanismele de acțiune a bacteriocinelor sunt diverse și complexe datorită în special structurii chimice diferite, ele acționând în majoritatea cazurilor asupra membranei celulare prin formare de pori, sau la nivelul unor procese esențiale ale celulelor vii (transcriere, translație, replicare, biosinteza componentelor peretelui celular) (3).

Bacteriile lactice au un rol important în fermentarea și conservarea alimentelor. Ele produc compuși cu activitate antimicrobiană, cum ar fi etanolul, acidul formic, acizi grași, peroxidul de hidrogen, diacetil, acetaldehidă, izomeri D- ai aminoacizilor, etc. În ultimii ani, speciile de bacterii lactice izolate din produse obținute din fermentare naturală, care produc bacteriocine, au fost intens studiate datorită potențialului de utilizare ca aditivi siguri pentru conservarea alimentelor (4).

STUDII PRIVIND ACȚIUNEA ANTIMICROBIANĂ A UNOR SPECII DE BACTERII LACTICE

Lactatele fermentate natural sunt o componentă extrem de importantă în alimentația populației din România, în special pentru populația din mediul rural. Cele mai importante specii de bacterii lactice izolate din produse românești fermentate sau crude de origine lactată sunt *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc* sp. și *Enterococcus* sp. (5). Produsele lactate alimentare probiotice au fost analizate și s-a demonstrat că, în afară de beneficiile nutriționale, ele influențează pozitiv fiziologia organismului uman.

Cele mai cunoscute produse lactate sunt înghețata, brânza, iaurtul, laptele îmbogățit cu tulpini de *Acidophilus* și *Bifidus*, ayran, kefir și kumis. Băuturile lactate (fermentate sau nefermentate) sunt considerate alimente care furnizează probiotice. În procesul de fermentare, se obțin în mod natural acid lactic, acetic și citric, acizi care sunt utilizați frecvent în industria alimentară pentru îmbunătățirea calităților organoleptice a mai multor produse destinate consumului (6).

Într-un studiu publicat în 2012, au fost analizate 6 tulpini de bacterii lactice izolate din produse alimentare vegetale fermentate natural (7) care fac parte din speciile *Leuconostoc* sp. și *Lactobacillus* sp. O parte dintre acestea prezentau activitate antimicrobiană pentru speciile *Escherichia coli* și *Salmonella enterica*. Acest studiu demonstrează că se pot obține tulpini noi de bacterii lactice cu efect antimicrobian și din produsele alimentare vegetale fermentate natural, nu numai din produsele lactate fermentate (iaurt, kefir, brânzeturi etc.) (8). Genul *Lactobacillus* este cel mai mare grup care conține o varietate de specii de bacterii lactice și de aceea este și cel mai utilizat probiotic într-o varietate de produse alimentare, în principal în lactatele fermentate. Murăturile sunt un produs alimentar extrem de utilizat în țările din sud-estul Europei, în special în România. Acestea se obțin prin fermentarea naturală a vegetalelor proaspete în prezența unei soluții saline. În urma procesului de fermentare se obțin în mediu diferite specii de bacterii lactice. Prezența și diversitatea acestora depinde de timpul care trece de la debutul fermentării (9,10).

Cercetările efectuate anterior au evidențiat efectul antimicrobian al unor tulpini de bacterii lactice asupra unor specii de *Candida albicans* și a unor tulpini bacteriene patogene (*Salmonella enteridis*, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Shigella flexerii*). De asemenea, s-a remarcat creșterea sensibilității la fluconazol a tulpinii de drojdie în prezența bacteriilor lactice (11).

Mecanismele de acțiune ale probioticelor în prevenția și tratamentul bolilor infecțioase ar fi:

- sinteza de substanțe antibacteriene: speciile *L. rhamnosus* GG și *L. acidophilus* LB produc substanțe inhibitoare ale bacteriilor Gram pozitive și Gram negative;
- competiție pentru nutrienți necesară creșterii patogenilor;
- inhibiția competitivă a adeziunii patogenilor;
- modificarea toxinelor sau a receptorilor toxinelor.

Disfuncția barierei intestinale poate favoriza translocarea și diseminarea unui număr important de bacterii, în special bacterii aerobe Gram negative, producându-se astfel sepsisul. Acest fenomen poate apărea în afecțiuni grave, precum sepsis post-operator, pancreatită acută, ciroză hepatică avansată, insuficiență multiplă de organ. Într-un studiu realizat în 2001 s-a demonstrat că administrarea de *Lactobacillus plantarum* la pacienții cu pancreatită acută severă a scăzut semnificativ rata de apariție a necrozei pancreatice și a abceselor (12). De asemenea, tulpina de *L. plantarum* a determinat scăderea ratei infecțiilor post-transplant hepatic, rata de apariție a acestora fiind de 13%, comparativ cu 48% în grupul pacienților tratați cu antibiotice. Într-un alt studiu efectuat la pacienți cu transplant hepatic s-a administrat un preparat sinbiotic, compus din 4 tulpini probiotice (*L. paracasei*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentoseceus*) și patru tipuri de fibre fermentabile (β -glucan, inulină, pectină, amidon). Infecția post-operatorie a apărut la 1% din grupul tratat, față de 48% în grupul de control, sugerând astfel că administrarea de probiotice poate constitui o alternativă viabilă la antibiotice pentru prevenirea infecției postoperatorii. În cazul infecțiilor urogenitale s-a observat că probioticele colonizează mucoasa vaginală; s-a sugerat potențiala utilizare a acestora în tratamentul și prevenția infecțiilor de tract urinar și infecțiilor vaginale. Există date clinice care demonstrează eficacitatea tulpinilor *L. rhamnosus* GR-1 și *Lactobacillus reuteri* B-54 și RC-14 în restaurarea florei vaginale și reducerea infecțiilor la peste 50% din femei după administrare orală zilnică și la 79% din femei după utilizare vaginală săptămânală (13). Speciile de bacterii care produc acid lactic pot preveni și trata infecțiile genito-urinare prin aderența lor la nivelul celulelor epiteliale vaginale, formând o barieră protectoare împotriva colonizării bacteriilor patogene (14). Candidoza vulvovaginală este des întâlnită la femei, fiind a doua patologie după infecțiile de origine bacteriană. Agentul patogen cel mai întâlnit este *Candida albicans*, iar produsele pe bază de culturi lactice s-au dovedit a fi extrem de eficiente (15). Într-un studiu realizat în 2012, Vicariotto F. și colaboratorii săi au evidențiat potențialul terapeutic al utilizării a două tulpini de bacterii lactice, *L. fermentum* LF10 și *L. acidophilus* LA02 sub forma unui produs vaginal efervescent (16).

De asemenea, a fost analizată și activitatea antimicrobiană a unor tulpini aparținând genurilor *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* și *Bacillus* împotriva unor specii bac-

teriene Gram pozitive și Gram negative. Rezultatele au arătat că cele mai multe tulpini de bacterii lactice selecționate produceau compuși activi pe mediu solid, care prezentau proprietăți antagoniste împotriva speciilor *Salmonela*, *Typhimurium* și *E. coli* (17).

CONCLUZII

Prin proprietățile antifungice și antimicrobiene demonstrate, anumite tulpini de bacterii lactice pot îmbunătăți tratamentul antimicrobian specific.

BIBLIOGRAFIE

1. **Nobre Costa G., Miglioranza L.H.S.** Probiotics: The effects on human health and current prospects. 365-384. Edited by Everlon Cid Rigobelo. Publisher: InTech. 2012
2. **Backhed F., Ley R.E., Sonnenburg J.L., Peterson D.A., Gordon J.I.** Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307:1915-1920
3. **De Vuyst L., Vandamme E.J.** Bacteriocins of lactic acid bacteria, *Microbial Genetics and Application*, Ed. Blackie Academic and Professional, 1994: 91-503.
4. **Diop M.B., Dicois-Dauphin R., Tine R., Jacquelin A.N., Thonart P.** Bacteriocin producers from traditional food productions. *Biotech Agron Soc Environ*, 2007, 11:275-81
5. **Zamfir M., Vancanneyt M., Makras L., Vaningelgem F., Lefebvre K., Pot B., Swings J., De Vuyst L.** Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Syst Appl Microbiol* 2006, 29(6):487-95
6. **Akbarzadeh F., Homayouni A.** Probiotics: Dairy probiotic foods and coronary heart disease: a review on mechanism of action. 121-128. Edited by Everlon Cid Rigobelo. Publisher: InTech. 2012
7. **Zamfir M., Grosu-Tudor S.S.** Probiotic potential of some lactic acid bacteria isolated from Romanian fermented vegetables. *Annals of RSCB* 2012, XVIII(1):234-239
8. **Zamfir M., Grosu-Tudor S.S.** Stress response of some lactic acid bacteria isolated from Romania artisan dairy products. *World J Microbiol Biotechnol* 2014, 30(2):375-84
9. **Wouters D., Grosu-Tudor S.S., Zamfir M., De Vuyst L.** Bacterial community dynamics, lactic acid bacteria species diversity and metabolite kinetics of traditional Romanian vegetables fermentation. *J Sci Food Agric* 2013, 93(4):749-60
10. **Grosu-Tudor S.S., Zamfir M.** Isolated and characterization of lactic acid bacteria from Romanian fermented vegetables. *Rom Biotechnol Lett* 2011, 16(6) supplement:148-154
11. **Martinez R.C., Franceschini S.A., Patta M.C., Quintana S.M., Candido J.C., De Martinis E.C., Reid G.** Improved treatment of vulvovaginal candidiasis with fluconazole plus probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14. *Letl Appl Microbiol* 2009, 48(3):269-74
12. **Mangiante G., Colucci G., Canepari P., Bassi C., Nicoli N., Casaril A., Marinellor P., Sognoretto C., Bengmark S.** *Lactobacillus plantarum* reduces infection of pancreatic necrosis in experimental acute pancreatitis. *Dig Surg* 2001, 18(1):47-50
13. **Anukan K.C., Hayes K., Summer K., Reid G.** Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-4 may help downregulate TNF-alpha, Il-6, Il-8, Il-10 and Il-12 (p70) in the neurogenic bladder of spinal cord injured patients with urinary tract infections: a two-case study. *Adv. Urol* 2009, article ID 680363
14. **Dragomir A., Cheța D.M.** Probioticele și potențialul lor terapeutic-preventiv. *Medicina interna* 2008, 3
15. **Kohkel G.A., Assefa S., Reid G.** Probiotic interference of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 with the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2012:636474
16. **Vicariotto F., Del Piano M., Mogna L., Mogna G.** Effectiveness of the association of 2 probiotic strain formulated in a slow release vaginal product, in women affected by vulvovaginal candidiasis: a pilot study. *J Clin Gastroenterol* 2012, 46 suppl:S73-83
17. **Tejero-Sarinena S., Barlow J., Costabile A., Gibson G.R., Rowland I.** In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: evidence for the effect of organic acids. *Anaerobe* 2012, 18(5):530-8

Notă

Lucrarea a beneficiat de suport financiar prin proiectul cu titlul „**Studii doctorale și postdoctorale Orizont 2020: promovarea interesului național prin excelență, competitivitate și responsabilitate în cercetarea științifică fundamentală și aplicată românească**“, număr de identificare contract POSDRU/159/1.5/S/140106. Programul este cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013. **Investește în oameni!**